

審 査 の 結 果 の 要 旨

氏 名 アシトリ ヌー ファイザー

昆虫媒介性の疾患は世界で猛威を振るっており、その流行のメカニズムの解明が求められている。日本脳炎は蚊媒介性のウイルス疾患の一つであり、人に対する広範なワクチン接種や定期的なウイルス保有動物のサーベイランスなどにより人の症例はかなりコントロールされるようにはなっているものの、ワクチンプログラムが行き届いていない国（地域）の存在や数十年間発生がなかった遺伝子型を持つ日本脳炎ウイルス（JEV）の再興、従来の流行地以外の地域への JEV の進出など、現在でも日本脳炎は世界各地で公衆衛生上の問題となっている。JEV は蚊媒介性であるため、その分布はブタをはじめとする増幅動物の存在と、その増幅動物から次の増幅動物あるいは感受性動物へと媒介可能な蚊の種の分布に大きく影響される。そのため、日本脳炎ウイルスの分布の解析や流行地以外で潜在的ベクターとなりうる蚊種の分布やその伝播能力の解明は、日本脳炎対策を考えるうえで重要である。

そこで本論文で申請者は、JEV の伝播や分布を解明する一環として媒介蚊に焦点を当て、各種の蚊における JEV を含めたウイルス叢解析と感染動態の解明を行った。まず第 1 章では、ダニにおいてウイルス叢解析のために確立された網羅的な遺伝子配列解析とウイルス分離を組み合わせた方法を一部改変して蚊に応用することにより、日本国内の 3 か所で採取された蚊を対象にウイルス叢解析を行った。その結果、RNA ウイルスを対象とした網羅的遺伝子配列解析では JEV のベクターとなることが知られている *Culex vishnui* サブグループに属する 2 種の蚊およびベクターとはならない *Cx. inatomii* から合計で 26 のウイルス遺伝子が検出された。続くウイルス分離では昆虫特異的ウイルスを含めて 5 種のウイルスを検出することができた。ベクター種からは 1 株ながら遺伝子型 I 型の JEV も分離された。

第 2 章では、第 1 章で蚊に対する応用が可能であることを確認したウイルス叢解析方法

をインドネシアのバリ島で捕獲された蚊に応用し、そのウイルス叢を第 1 章で解析した日本の蚊のウイルス叢と比較した。ウイルス遺伝子の網羅的解析では、日本の蚊と類似したウイルス叢が確認され、合計で 35 種のウイルスが検出されたが、それらはすべて昆虫のウイルスであり、人獣共通感染症の病原体は検出されなかった。一方、ウイルス分離では JEV が 1 株検出され、遺伝子系統解析では遺伝子型 IV 型であった。バリ島を含む地域では 2017 年と 2019 年に JEV IV 型の発生が報告されており、同地域に IV 型 JEV が常在していることが示唆された。

第 3 章においては、各種の蚊の JEV ベクターとしての能力を明らかにするため、*in vitro* および *in vivo* の実験が行われた。*In vitro* では、異なる蚊種由来の細胞株での JEV の増殖性が検討され、程度の差こそあれ様々な蚊種の細胞株で JEV が増殖可能であることが示された。続く *in vivo* 実験では異なる属に分類される 2 種の蚊 (*Cx. tritaeniorhynchus* および *Aedes japonicus japonicus*) における感染性と伝播性が検証された。主な JEV 媒介蚊として知られる *Cx. tritaeniorhynchus* では、現在および過去に流行の主流となっている遺伝子型 I および III 型、ならびに流行地域の拡大が懸念されている遺伝子型 V 型のいずれもが高率に感染し伝播されることが確認された。一方、非流行地において潜在的なベクターとなることが危惧されている *A. j. japonicus* では、*Cx. tritaeniorhynchus* に比較するとその効率は大きく劣るものの、実験に用いたウイルス株すべてに感染し伝播する能力を有していることも明らかとなった。

この研究は JEV 媒介種を始めとする蚊に対して網羅的なウイルス叢解析を行った初めての報告であり、ダニで開発された手法が蚊においても有用であることを示した。この手法を用いた蚊のウイルス叢解析は日本脳炎の分布や感染の広がり の解明、対策の開発に大いに貢献すると期待できる。また、主な媒介蚊あるいは媒介蚊としては認識されてこなかった種の蚊における JEV への感受性と伝播性の研究は、これまでに日本脳炎の発生が報告されていなかった地域への JEV の進出の要因や流行地域における日本脳炎のウイルス型の変遷の解明、流行の抑制などに役立つと考えられる。

以上のようにこれらの研究成果は学術上重要であり、応用上も大きく寄与するところが多い。よって、審査委員一同は本論文が博士(獣医学)の学位論文として価値あるものと認めた。